基于分子与形态证据的傣药“傣百解”基原考证

李金月[1,2]，谭运洪[1,3]，李海涛[4]，岩罕单[5]，龚燕雄[6]，肖云学[7]，郁文彬[1,3*]

（1.中国科学院西双版纳热带植物园 综合保护中心，云南 勐腊 666303；2.中国科学院大学，北京 100049；3.中国科学院东南亚生物多样性研究中心，云南 勐腊 666303；4.中国医学科学院、北京协和医学院药用植物研究所云南分所，云南景洪 666100；5.西双版纳州傣医医院，云南 景洪 666100；6.云南省热带作物科学研究所，云南 景洪 666100；7. 中国科学院西双版纳热带植物园 园林园艺部，云南 勐腊 666303 ）

摘 要：“傣百解”是傣医常用的一种解药，其基原植物最早记录是夹竹桃科苦绳(*Dregea sinensis*)，后来被鉴定是夹竹桃科通光散(*Marsdenia tenacissima*)。为了进一步澄清“傣百解”的基原植物，该研究结合形态与分子证据对“傣百解”基原植物及近缘种进行了整合分析。结果表明：(1) 利用三个 DNA 片段 (*psbD-trnT*, *trnL-trnF*, ITS) 重建牛奶菜属(*Marsdenia*)及其它牛奶菜族物种的系统发育关系显示，“傣百解”样品与通光散样品构成一个独立的单系分支，并与灵药牛奶菜(*Marsdenia cavaleriei*)构成姐妹类群。(2) 结合形态性状与模式标本的对比分析发现“傣百解”基原植物与通光散模式标本基本一致，而其形态特征与姐妹种灵药牛奶菜存在明显差异。（3）进一步确定了“傣百解”的基原植物是通光散，其叶形态与花部性状差异可作为区分通光散和灵药牛奶菜的重要特征。该研究通过整合形态特征与分子证据完成了对“傣百解”的正本清源，可用于市场药材的快速准确鉴定，也为“傣百解”今后的开发利用奠定了基础。

关键词：傣百解，基原植物，分子系统学，形态学，考证

Authentication on the Dai medicinal herb “Dai-Bai-Jie” using molecular and morphological data

LI Jinyue[1,2], TAN Yunhong[1,3], LI Haitao[4], AI Handan[5], GONG Yanxiong[6], XIAO Yunxue[7], YU Wenbin[1,3*]

(1. *Center for Integrative Conservation, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences*, Mengla 666303, Yunnan, China; 2. *University of Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100049, China; 3. *Southeast Asia Biodiversity Research Institute, Chinese Academy of Sciences*, Mengla 666303, Yunnan, China; 4. *Yunnan Branch of Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College*, Jinghong 666100, Yunnan, China; 5. *Xishuangbanna Dai Medical Hospital*, Jinghong 666100, Yunnan, China; 6. *Yunnan Institute of Tropical Crops,* Jinghong, 666100, Yunnan, China; 7. *Center for Gardening and Horticulture, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences*, Mengla 666303, Yunnan, China)

Abstract : As a traditional Dai medicine, “Dai-Bai-Jie” is a kind of antidote, and its source plant was firstly recorded as *Dregea sinensis*. Currently, the source plant has been corrected as *Marsdenia tenacissima*. In order to further clarify the source plants of “Dai-Bai-Jie”, we carried out an integrated analysis of the source plants of “Dai-Bai-Jie” and its related species in this study. Our key results were as follows: (1) Phylogenetic relationship of *Marsdenia* and other species of Marsdenieae using three DNA fragments (*psbD-trnT, trnL-trnF*, ITS) showed that all “Dai-Bai-Jie” samples were supported as monophyletic with the sample of *M. tenacissima*,

基金项目：中国科学院“西部之光”项目; 云南省重点研发计划项目(202103AC100003); 重大科技基础设施开放研究项目(2017-LSF-GBOWS-02); 云南省万人计划“青年拔尖人才” [Supported by the West Light Foundation of the Chinese Academy of Sciences; Key R & D Program of Yunnan Province, China (202103AC100003); Large-scale Scientific Facilities of the Chinese Academy of Sciences (2017-LSF-GBOWS-02); Ten Thousand Talents Program of Yunnan for Top-notch Young Talents]。

第一作者：李金月 (1996-)， 硕士研究生，主要研究方向为植物 DNA 条形码和分子鉴定，（E-mail） lijinyue@xtbg.ac.cn。
***通信作者**：郁文彬，博士，研究员，研究方向为植物多样性保护与系统演化，（E-mail）yuwenbin@xtbg.ac.cn。

and were sister to *M. cavaleriei*; (2) Comparative analyses of morphological characters with type specimen proved that morphological characters of the "Dai-Bai-Jie" samples were consistent with those of the type specimen of *M. tenacissima* and obviously different from those of *M. cavaleriei*. In this study, the source plant of "Dai-Bai-Jie" was identified as the species *M. tenacissima*. Meanwhile, it is easy to discriminate from *M. cavaleriei* in the leaf and floral characters. According to both morphological and molecular evidence, it has been confirmed that the source plant of "Dai-Bai-Jie" was *M. tenacissima* that can be used for rapid and accurate authentication of medicinal herbs in the market, and also benefit for the development and utilization of the "Dai-bai-jie" medicine in future.

Key words: Dai-Bai-Jie, source plant, molecular phylogeny, morphology, authentication

“傣百解”为国药准字品种“雅解片”，傣族称为“雅解先打”，也俗称“大百解”，意译为“解百毒的药”（云南省食品药品监督管理局, 2005）。“解药”是傣族医药体系中最为重要的组成部分，也是区别于其他民族药的特色药物。“傣百解”是傣医常用的解药之一，在我国云南省傣族聚居的西双版纳州、德宏州、新平县、元江县等地，以及老挝、缅甸等国家广泛使用（中国科学院中国植物志编辑委员会, 1977）。“傣百解”可用于清热解毒、止咳平喘，同时具有抗肿瘤、降血压、抗炎等功效，还常用于治疗药物或食物中毒等（国家中医药管理局, 2005; Wang et al., 2018）。根据已有的文献报道，从“傣百解”基原植物通光散(*Marsdenia tenacissima*)中已分离出190余种化学成分，主要包括甾体类化合物、三萜类化合物、有机酸化合物和生物碱化合物等（廖矛川等, 2016），其中固醇类化合物是抗肿瘤和耐化疗逆转作用的特有物质和主要活性成分(Wang et al., 2018)。“傣百解”用药历史悠久，现已被西双版纳州傣医院用作多个院内制剂的组方药材，如百解胶囊、雅解嘎罕、版纳凉剂等。其中，“百解胶囊”在傣医临床应用最为广泛，具有良好的临床疗效以及开发应用前景（杨莲等, 2021）。鉴于“傣百解”具有重要的药用价值、市场前景良好、开发潜力大，因此需要加强对“傣百解”基原植物野生药材资源的保护，使该药用植物资源得到可持续利用。研究与开发利用傣药的首要环节，就是要对傣药药材品种进行整理与考证，这对澄清基原植物、确保傣药药材质量以及用药安全具有重要的意义（段宝忠等, 2015）。

基原鉴定是药材鉴定的核心内容之一。由于受到自然条件的限制和医著记载不详等原因，导致各地的傣医在一些药材基原的认识上会有在分歧，其中“傣百解”也曾经存在基原不清和错误鉴定的问题。《云南省中药材标准》（2005年版）记载了“傣百解”基原是萝藦科(Asclepiadaceae)的苦绳(*Dregea sinensis*)的根（云南省食品药品监督管理局, 2005）。管艳红等（2012）采用石蜡切片对“傣百解”药材和苦绳的根进行横切面结构比较发现两者存在明显差异，认为“傣百解”和苦绳是两种不同的植物。同年，管志斌（2012）等人利用ISSR分子标记分析“傣百解”和几种牛奶菜属(*Marsdenia*)药用植物的亲缘关系，发现“傣百解”与通光散的亲缘关系最近。随后，李海涛（2014）等综合文献查证、形态学解剖、生药学等证据对“傣百解”的基原进行了考证，发现“傣百解”基原植物为苦绳是早期的错误鉴定，认为“傣百解”的基原植物应该是萝藦科牛奶菜属的通光散。值得注意的是，在最新的被子植物分类系统已将萝藦科归并到夹竹桃科(Apocynaceae)作为一个亚科，即萝藦亚科(Asclepiadoideae) (The Angiosperm Phylogeny Group, 2016)。

目前，关于“傣百解”药材的研究是比较零散的形态学、生药学和化学成分等方面（管艳红等, 2012；李海涛等，2014；廖矛川等，2016），所以整合形态特征与分子证据开展“傣百解”基原植物考证具有重要意义。由于传统的药材鉴定方法具有一定的局限性，尤以近缘种、易混种在没有花和果等关键特征的情况下分类鉴定难度比较大，易出现错误鉴定。随着DNA测序技术的快速发展，分子鉴定方法因具有方便、快捷和准确等特点而被广泛应用于物种和药材鉴定(Yu et al., 2021)。因此，本研究以澄清傣药“傣百解”基原植物为目的，利用栽培的“傣百解”基原植物材料、通光散以及牛奶菜族的其他植物样品为研究对象，采用形态结合分子的方法，通过整合形态性状比较和系统发育树分析，探讨以下问题：(1)“傣百解”基原植物是否为通光散？(2)“傣百解”的近缘种有哪些？(3) 如何鉴别区分“傣百解”及其近缘种？

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究新收集了夹竹桃科牛奶菜属 5 种 17 份样品，包括了栽培于中国医学科学院药用植物所云南分所南药园傣百解样品 4 份，以及南山藤属(*Dregea*) 2 种 7 份样品和匙羹藤属(*Gymnema*)1 种 1 份样品。具体样品来源和凭证信息见表 1。采集植物样品的新鲜叶片经变色硅胶进行快速干燥，并低温保存，以备实验所需。

表 1 研究材料及其凭证信息

Table 1 Study materials and voucher information

采集号 Collection No.	采集地点 Collecting location	采集人 Collector
通光散 ***Marsdenia tenacissima***		
DBJ010	云南省景洪市西双版纳南药园 Botanical South Medicine Garden of Xishuangbanna, Jinghong City, Yunnan	李金月、郁文彬等 LI Jinyue, YU Wenbin, et al.
DBJ051	云南省景洪市西双版纳南药园 Botanical South Medicine Garden of Xishuangbanna, Jinghong City, Yunnan	李金月、郁文彬等 LI Jinyue, YU Wenbin, et al.
DBJ052	云南省景洪市西双版纳南药园 Botanical Garden of Xishuangbanna South Medicine, Jinghong City, Yunnan	李金月、郁文彬等 LI Jinyue, YU Wenbin, et al.
DBJ053	云南省西双版纳南药园 Botanical South Medicine Garden of Xishuangbanna, Jinghong City, Yunnan	李金月、郁文彬等 LI Jinyue, YU Wenbin, et al.
1469	云南省石屏县新城乡阿白冲村 Abaichong Village, Shiping County, Yunnan	李剑武 LI Jianwu
灵药牛奶菜 ***M. cavaleriei***		
DBJ005	云南省勐腊县勐仑镇勐醒村 Mengxing Village, Menglun Town, Mengla County, Yunnan	李金月、波应 LI Jinyue, BO Ying
DBJ008	云南省勐腊县中国科学院西双版纳热带植物园 Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla County, Yunnan	李金月、刘勐 LI Jinyue, LIU Meng
DBJ045	云南省勐腊县中国科学院西双版纳热带植物园 Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla County, Yunnan	李金月、杨婷婷 LI Jinyue, YANG Tingting

DBJ048	云南省景洪市西双版纳州傣医院 Xishuangbanna Dai Medical Hospital, Jinghong City, Yunnan	李金月、岩罕单等 LI Jinyue, AI Handan, et al.
DBJ049	云南省景洪市西双版纳州傣医院 Xishuangbanna Dai Medical Hospital, Jinghong City, Yunnan	李金月、岩罕单等 LI Jinyue, YAN Handan, et al.
DBJ050	云南省景洪市西双版纳州傣医院 Xishuangbanna Dai Medical Hospital, Jinghong City, Yunnan	李金月、岩罕单等 LI Jinyue, YAN Handan, et al.
DBJ054	云南省景洪市西双版纳南药园 Botanical South Medicine Garden of Xishuangbanna, Jinghong City, Yunnan	李金月、郁文彬等 LI Jinyue, YU Wenbin, et al.
DBJ055	云南省景洪市西双版纳南药园 Botanical South Medicine Garden of Xishuangbanna, Jinghong City, Yunnan	李金月、郁文彬等 LI Jinyue, YU Wenbin, et al.
DBJ059	云南省勐腊县中国科学院西双版纳热带植物园 Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla County, Yunnan	李金月、张淑红等 LI Jinyue, ZHANG Shuhong, et al.
DAI442	云南省勐腊县中国科学院西双版纳热带植物园 Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla County, Yunnan	郁文彬、任杉杉等 YU Wenbin, REN Shanshan, et al.
GY005	云南省景洪市西双版纳南药园 South Medicine Garden of Xishuangbanna, Jinghong City, Yunnan	龚燕雄 GONG Yanxiong
蓝叶藤 ***M. tinctoria***		
DBJ057	云南省勐腊县中国科学院西双版纳热带植物园 Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla County, Yunnan	李金月、张淑红等 LI Jinyue, ZHANG Shuhong, et al.
DBJ063	云南省勐腊县中国科学院西双版纳热带植物园 Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla County, Yunnan	李金月、谭运洪 LI Jinyue, Tan Yunhong, et al.
DBJ064	云南省勐腊县中国科学院西双版纳热带植物园 Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla County, Yunnan	李金月 LI Jinyue

裂冠牛奶菜 *M. incisa*		
DBJ058	云南省勐腊县中国科学院西双版纳热带植物园	李金月、张淑红等
	Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla County, Yunnan	LI Jinyue, ZHANG Shuhong, et al.
雅鲁藏布牛奶菜 *M. yarlungzangboensis*		
16CS11914	西藏自治区林芝市	刘成
	Linzhi City, Tibet Autonomous Region	LIU Cheng
苦绳 *Dregea sinensis*		
20CS19959	四川省阿坝县	刘成
	Aba County, Sichuan Province	LIU Cheng
南山藤 *D. volubilis*		
DBJ006	云南省勐腊县中国科学院西双版纳热带植物园	李金月
	Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla County, Yunnan	LI Jinyue
DBJ007	云南勐腊县勐仑镇勐醒村	李金月、波应
	Mengxing Village, Menglun Town, Mengla County, Yunnan	LI Jinyue, BO Ying
DBJ018	云南省勐腊县中国科学院西双版纳热带植物园	李金月
	Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla County, Yunnan	LI Jinyue
DAI117	云南省勐腊县中国科学院西双版纳热带植物园	郁文彬、任杉杉等
	Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla County, Yunnan	YU Wenbin, REN Shanshan, et al.
DAI153	云南省勐腊县中国科学院西双版纳热带植物园	郁文彬、任杉杉等
	Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla County, Yunnan	YU Wenbin, REN Shanshan, et al.
DAI174	云南省勐腊县中国科学院西双版纳热带植物园	郁文彬、任杉杉等
	Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla County, Yunnan	YU Wenbin, REN Shanshan, et al.
宽叶匙羹藤 *Gymnema latifolium*		
DBJ061	云南省勐腊县中国科学院西双版纳热带植物园	李金月、张淑红等
	Xishuangbanna Tropical Botanical Garden,	LI Jinyue, ZHANG Shuhong, et al.

Chinese Academy of Sciences, Mengla County,
Yunnan

1.2 DNA 提取、测序和数据处理

硅胶干燥后的样品利用改良的十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法提取总 DNA (Doyle & Doyle, 1987)，然后使用琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 分光光度计评估 DNA 质量。检测合格的 DNA 样品使用 Covaris 超声波破碎仪随机打断，随后进行末端修复、加 A 尾、加测序接头、纯化、PCR 扩增、片段筛选等步骤，然后完成片段长度为 350 bp 的测序文库制备。构建好的测序文库使用 Qubit 2.0 对浓度进行检测，定量范围在 2~1 000 ng，并依据溶度进行多样品混合，然后利用 Illumina Novaseq 6000 进行双向 150 bp 读长测序。测序原始数据(raw data)直接使用 GetOrganelle 软件包 (Jin et al., 2020) 进行叶绿体基因组和核糖体 DNA 从头(*de novo*)组装。选取长春花(*Catharanthus roseus*) 的叶绿体基因组(KC561139)和核糖体基因(HQ130657)序列作为参考序列，借助 Geneious (Kearse et al., 2012) 对新测物种进行初步注释，相似性参数设置为 70%，并结合 ORF (open reading frame)手工调整注释结果，其中蛋白编码基因的注释依据参考序列和开放阅读框确定起始密码子和终止子位置。

1.3 系统发育分析

在 Geneious 软件中提取新测 29 份样品的叶绿体基因片段 *psbD-trnT* 和 *trnL-trnF*，以及核糖体基因序列 ITS（包括 ITS1，5.8S，ITS2 三个区），并从 GenBank 上下载已有的 42 种牛奶菜属、1 种南山藤属以及 2 种匙羹藤属的 *psbD-trnT*、*trnL-trnT* 以及 ITS 序列，以吊灯花属 *Ceropegia* L.植物锥顶吊灯花 *Ceropegia nilotica* 作为外类群（表 2）。三个基因片段的序列分别利用 MAFFT 7.450 软件进行多序列自动比对 (Katoh et al., 2013)，然后输入到 Geneious 软件将模糊的区域或空位进行删除或调整。使用贝叶斯推断法(Bayesian inference, BI)，最大似然法(maximum likelihood, ML)和最大简约法(maximum parsimony, MP)对三个片段分别进行单独和联合重建。三个基因片段矩阵分别利用 jModeltest 2 2.1.6，选择贝叶斯信息量准则(bayesian information criterion, BIC)(Darriba et al., 2012) 筛选出序列矩阵最佳核苷酸替代模型，然后采用 Mrbayes 3.2.7(Huelsenbeck & Ronquist, 2001)，进行贝叶斯系统发生分析。最大似然法选用 RAxML-HPC2 on XSEDE 8.2.12 工具(Alexandros, 2014)，选择 GTR CAT 模型，并设置 1000 次靴带值估算分支的支持率(bootstrap support value, BS)，使用 CIPRES 网站在线构建 ML 树。最大简约法使用 MEGA 10.2.6 软件(Kumar et al., 2018)，采用子树修剪和嫁接(Subtree-Pruning-Regrafiting, SPR)算法进行分析获得 MP 树(Nei & Kumar, 2000)。系统进化树使用 FigTree 1.4.1 (Price et al., 2009) 进行美化。

表 2 其他取样物种和序列 GenBank 登录号

Table 2 List of taxa and GenBank accessions of other sequences used in this study

物种 Species	*psbD-trnT*	*trnL-trnF*	ITS
Marsdenia abyssinaca	MK214631	MK214587	MK214515
M. altissima	MK214632	MK214588	MK214516
M. amorimii	MK214633	MK214589	MK214517
M. angustata	MK214634	MK214590	MK214518
M. avacanoeira	MK214635	MK214591	MK214520
M. breviramosa	MK214637	MK214592	MK214521
M. caatingae	MK21463	MK214593	MK214522

M. calcaria	MK214639	MK214594	MK214523
M. castillonii	—	MK214595	LR94768
M. clausa	MK214640	MK214596	MK214524
M. coulteri	MK214641	MK214597	LR794769
M. cundurango	MK214642	MK214598	LR794770
M. dorothyae	MK214643	MK214599	MK214525
M. ecuadorensis	—	LR794771	LR794771
M. gilgiana	MK214644	MK214602	—
M. gymnemoides	MK214646	MK214603	—
M. heringeri	MK214647	MK214604	MK214526
M. hilariana	MK214648	MK214605	MK214527
M. laxiflora	MK214649	LR794720	LR794776
M. linearis	MK214650	MK214607	LR794781
M. loniceroides	MK214651	MK214608	MK214528
M. macrophylla	MK214652	MK214609	MK214529
M. megalantha	MK214653	MK214611	MK214530
M. Mexicana	MK214654	MK214612	MK214531
M. oreophila	MK214655	MK214614	MK214534
M. paganuccii	MK214656	MK214615	MK214535
M. phallica	MK214657	MK214616	MK214536
M. pickelii	MK214658	MK214617	MK214537
M. queirozii Fontella	MK214659	MK214618	MK214538
M. riparia	MK214660	MK214619	—
M. rubrofusca	MK214661	MK214620	MK214539
M. rupestris	MK214662	MK214621	MK214540
M. saturejifolia	MK214663	MK214622	MK214541
M. sessilifolia	MK214664	MK214623	MK214542
M. rupestris	MK214662	MK214621	MK214540
M. sprucei	MK214665	MK214625	MK214543
M. rupestris	MK214662	MK214621	MK214540
蓝叶藤 *M. tinctoria*	MK214666	MK214626	MK214545
M. trisegmentata	MK214667	MK214627	MK214546

Marsednia trivirgulata	MK214668	MK214628	—
M. weddellii	MK214669	MK214629	—
M. zehntneri	MK214670	—	MK214548
M. zimapanica	MK214671	MK214630	MK214549
苦绳 *Dregea sinensis*	—	AF214191	MH710776
广东匙羹藤 *Gymnema inodorum*	—	AJ431751	KP126843
匙羹藤 *G. sylvestre*	MN711723	MN711723	FM178492
匙羹藤 *G. sylvestre*	—	—	MG818139

注：—表示 NCBI 中没有数据。
Note: — indicates no data in NCBI.

1.4 形态特征比较

将采集到的“傣百解”样品与通光散的模式标本进行形态观察，并进一步比较分析在系统树上与“傣百解”亲缘关系最近的物种，观察和比较“傣百解”基原植物与其姐妹种之间的形态特征差异。

2 结果与分析

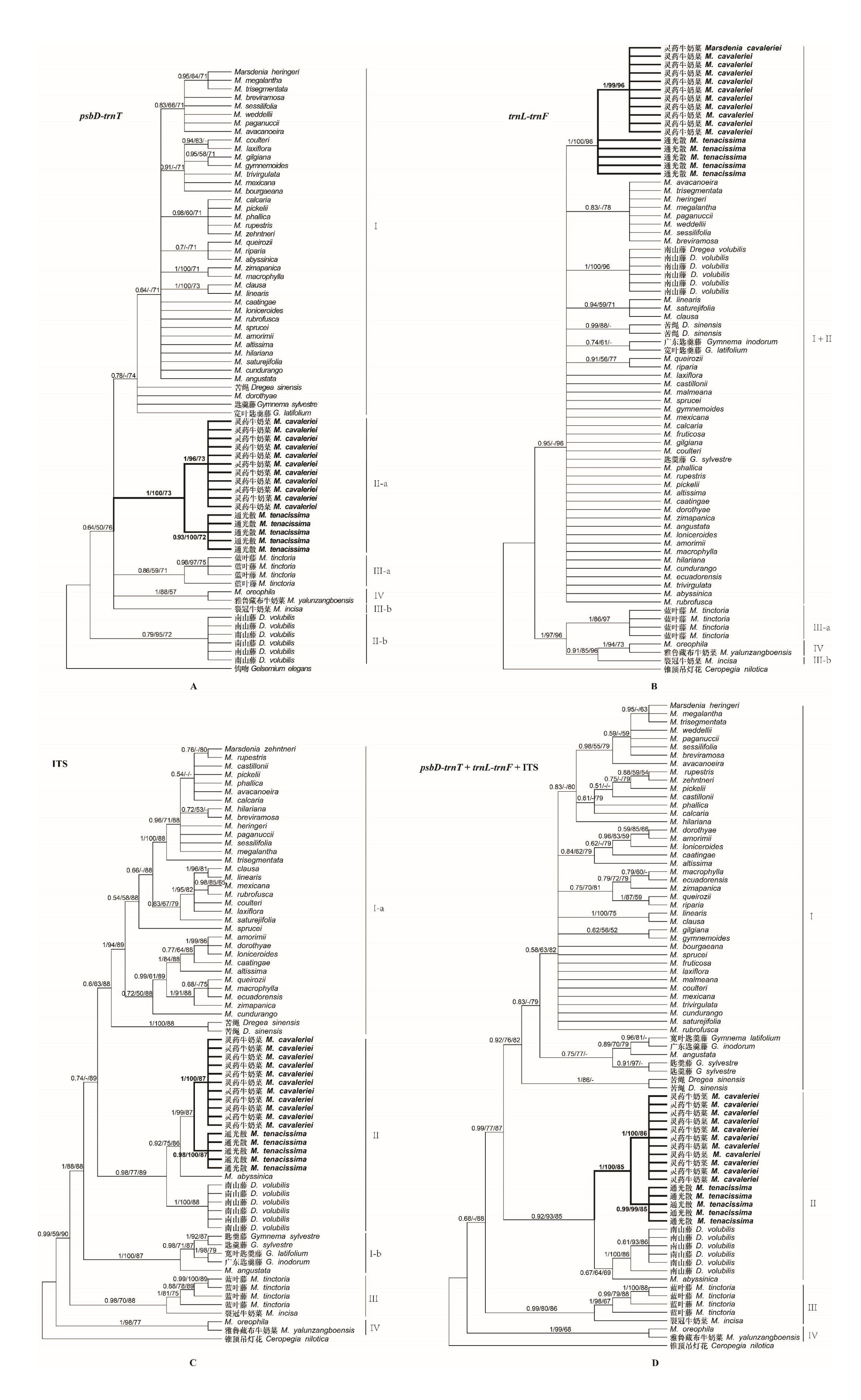
2.1 基因序列特征

核糖体 ITS 矩阵的长度为 768 bp，包含 334 个变异位点(variable sites)，其中 202 个为位系统发育信息位点(parsimony-informative site)。叶绿体片段 *psbD-trnT* 矩阵的长度为 1 676 bp，包含 247 个变异位点，其中有 51 个为系统发育信息位点。叶绿体片段 *trnL-trnF* 矩阵的长度为 1 006 bp，包含 142 个变异位点，其中有 47 个为系统发育信息位点。*psbD-trnT* + *trnL-trnF* + ITS 序列矩阵全长 3 326 bp，包含 597 个变异位点，其中有 305 个为系统发育信息位点。

2.2 系统发育分析

同一基因片段矩阵采用贝叶斯法、最大似然法和最大简约法构建的系统发育树的拓扑结构基本一致（图 1）。三个片段联合矩阵得到的系统发育树比单基因构建的系统发育树能更好地澄清物种之间的关系（图 1:D）。在单基因系统发育树，核糖体 ITS 矩阵(图 1:C)比叶绿体 *psbD-trnT* 矩阵 (图 1:A)和 *trnL-trnF* 矩阵(图 1:B)能更好地将物种进行区分和鉴别。

联合数据矩阵系统发育树结果表明牛奶菜属不是一个单系类群，即南山藤属和匙羹藤属物种与牛奶菜属混合在一起。系统发育分析显示牛奶菜族分为四个主要分支，其中雅鲁藏布牛奶菜(*Marsdenia yarlungzangboensis*)与(*Marsdenia oreophila*)构成了分支 IV ($BI_{PP}/ML_{BS}/MP_{BS}$ = 1.00/99/68)，是最早分化出的分支，与其他三个分支构成姐妹关系 (BI_{PP}/MP_{BS} = 0.68/88)；随后是蓝叶藤(*Marsdenia tinctoria*)和裂冠牛奶菜(*Marsdenia inicisa*)组成了分支 III ($BI_{PP}/ML_{BS}/MP_{BS}$ = 0.99/80/86)，并较好支持是分支 I + II 的姐妹群($BI_{PP}/ML_{BS}/MP_{BS}$ = 0.99/77/87)。分支 II 包括了“傣百解”样品，以及通光散、灵药牛奶、南山藤(*Dregea volubilis*)和(*Marsdenia abyssinica*) ($BI_{PP}/ML_{BS}/MP_{BS}$ = 0.92/93/85)；其中“傣百解”基原植物样品与通光散样品聚在一起形成单系 ($BI_{PP}/ML_{BS}/MP_{BS}$ = 0.92/93/85)，然后与灵药牛奶菜



psbD-trnT
Marsdenia heringeri
M. megalantha
M. trisegmentata
M. breviramosa
M. sessilifolia
M. weddellii
M. paganuccii
M. avacanoeira
M. coulteri
M. laxiflora
M. gilgiana
M. gymnemoides
M. trivirgulata
M. mexicana
M. bourgaeana
M. calcaria
M. pickelii
M. phallica
M. rupestris
M. zehntneri
M. queirozii
M. riparia
M. abyssinica
M. zimapanica
M. macrophylla
M. clausa
M. linearis
M. caatingae
M. loniceroides
M. rubrofusca
M. sprucei
M. amorimii
M. altissima
M. hilariana
M. saturejifolia
M. cundurango
M. angustata
苦绳 Dregea sinensis
M. dorothyae
匙羹藤 Gymnema sylvestre
宽叶匙羹藤 G. latifolium
灵药牛奶菜 M. cavaleriei
通光散 M. tenacissima
蓝叶藤 M. tinctoria
M. oreophila
雅鲁藏布牛奶菜 M. yalunzangboensis
裂冠牛奶菜 M. incisa
南山藤 D. volubilis
钩吻 Gelsemium elegans
I
II-a
III-a
IV
III-b
II-b
A
trnL-trnF
灵药牛奶菜 Marsdenia cavaleriei
灵药牛奶菜 M. cavaleriei
通光散 M. tenacissima
M. avacanoeira
M. trisegmentata
M. heringeri
M. megalantha
M. paganuccii
M. weddellii
M. sessilifolia
M. breviramosa
南山藤 Dregea volubilis
南山藤 D. volubilis
M. linearis
M. saturejifolia
M. clausa
苦绳 D. sinensis
广东匙羹藤 Gymnema inodorum
宽叶匙羹藤 G. latifolium
M. queirozii
M. riparia
M. laxiflora
M. castillonii
M. malmeana
M. sprucei
M. gymnemoides
M. mexicana
M. calcaria
M. fruticosa
M. gilgiana
M. coulteri
匙羹藤 G. sylvestre
M. phallica
M. rupestris
M. pickelii
M. altissima
M. caatingae
M. dorothyae
M. zimapanica
M. angustata
M. loniceroides
M. amorimii
M. macrophylla
M. hilariana
M. cundurango
M. ecuadorensis
M. trivirgulata
M. abyssinica
M. rubrofusca
蓝叶藤 M. tinctoria
M. oreophila
雅鲁藏布牛奶菜 M. yalunzangboensis
裂冠牛奶菜 M. incisa
锥须吊灯花 Ceropegia nilotica
I + II
III-a
IV
III-b
B
ITS
Marsdenia zehntneri
M. rupestris
M. castillonii
M. pickelii
M. phallica
M. avacanoeira
M. calcaria
M. hilariana
M. breviramosa
M. heringeri
M. paganuccii
M. sessilifolia
M. megalantha
M. trisegmentata
M. clausa
M. linearis
M. mexicana
M. rubrofusca
M. coulteri
M. laxiflora
M. saturejifolia
M. sprucei
M. amorimii
M. dorothyae
M. loniceroides
M. caatingae
M. altissima
M. queirozii
M. macrophylla
M. ecuadorensis
M. zimapanica
M. cundurango
苦绳 Dregea sinensis
苦绳 D. sinensis
灵药牛奶菜 M. cavaleriei
通光散 M. tenacissima
M. abyssinica
南山藤 D. volubilis
匙羹藤 Gymnema sylvestre
匙羹藤 G. sylvestre
宽叶匙羹藤 G. latifolium
广东匙羹藤 G. inodorum
M. angustata
蓝叶藤 M. tinctoria
裂冠牛奶菜 M. incisa
M. oreophila
雅鲁藏布牛奶菜 M. yalunzangboensis
锥须吊灯花 Ceropegia nilotica
I-a
II
I-b
III
IV
C
psbD-trnT + trnL-trnF + ITS
Marsdenia heringeri
M. megalantha
M. trisegmentata
M. weddellii
M. paganuccii
M. sessilifolia
M. breviramosa
M. avacanoeira
M. rupestris
M. zehntneri
M. pickelii
M. castillonii
M. phallica
M. calcaria
M. hilariana
M. dorothyae
M. amorimii
M. loniceroides
M. caatingae
M. altissima
M. macrophylla
M. ecuadorensis
M. zimapanica
M. queirozii
M. riparia
M. linearis
M. clausa
M. gilgiana
M. gymnemoides
M. bourgaeana
M. sprucei
M. fruticosa
M. laxiflora
M. malmeana
M. coulteri
M. mexicana
M. trivirgulata
M. cundurango
M. saturejifolia
M. rubrofusca
宽叶匙羹藤 Gymnema latifolium
广东匙羹藤 G. inodorum
M. angustata
匙羹藤 G. sylvestre
苦绳 Dregea sinensis
苦绳 D. sinensis
灵药牛奶菜 M. cavaleriei
通光散 M. tenacissima
南山藤 D. volubilis
M. abyssinica
蓝叶藤 M. tinctoria
裂冠牛奶菜 M. incisa
M. oreophila
雅鲁藏布牛奶菜 M. yalunzangboensis
锥须吊灯花 Ceropegia nilotica
I
II
III
IV
D

主要分支使用罗马数字表示，分支节点上的数值以 $BI_{pp}/ML_{BS}/MP_{BS}$ 的方式表示贝叶斯后验概率/最大似然树自展支持率/最大简约树自展支持率，后验概率不足 0.50 或支持率不足 50 的均不标记。

Clades were annotated using Roman numbers, and data upon each node ($BI_{pp}/ML_{BS}/MP_{BS}$) indicate Bayesian inference posterior probability / Maximum Likelihood Bootstrap Values/ Maximum Parsimony Bootstrap Values, and BS below 0.50 and PP below 50 were unlabeled.

图 1 基于叶绿体片段 (*psbD-trnT*, *trnL-trnF*) 和核基因 ITS 构建傣百解及其近缘种的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic reconstruction of Dai-Bai-Jie and its related species based on two plastid (*psbD-trnT* and *trnL-trnF*) and nuclear ribosome DNA (ITS) data

(*Marsdenia cavaleriei*)互为姐妹类群，所形成的分支节点支持率较高 ($BIPP/ML_{BS}/MP_{BS}$ = 1.00/100/85)，这种关系也得到了单基因片段数据的支持；另外，南山藤与 *Marsdenia abyssinica* 形成了一个分支 ($BI_{PP}/ML_{BS}/MP_{BS}$ = 0.67/64/69)。分支 I 包括了美洲产的牛奶菜属物种，以及匙羹藤(*Gymnema sylvestre*)、宽叶匙羹藤(*Gymnema latifolium*)、广东匙羹藤(*Gymnema inodorum*)和苦绳（$BI_{PP}/ML_{BS}/MP_{BS}$ = 0.92/76/82)，且非单系的匙羹藤属分支包括 *Marsdenia abyssinica*。

2.3 形态学分析

2.2.1 傣百解与通光散模式标本的比较

通过比较“傣百解”基原植物的凭证标本与通光散的模式标本（图 2），发现两者的叶片和花形态特征基本一致：（1）茎干和叶片表面密被淡黄色柔毛，叶片在顶端出急骤趋于尖狭，叶基部深心形，近圆形弯缺；（2）花序均为多歧聚散花序，花外部密被绒毛，花冠近钟状，花萼 5 瓣深裂，裂片肉质膨胀，柱头宽圆筒状凸起等。由此也进一步证明了傣百解的基原为通光散。



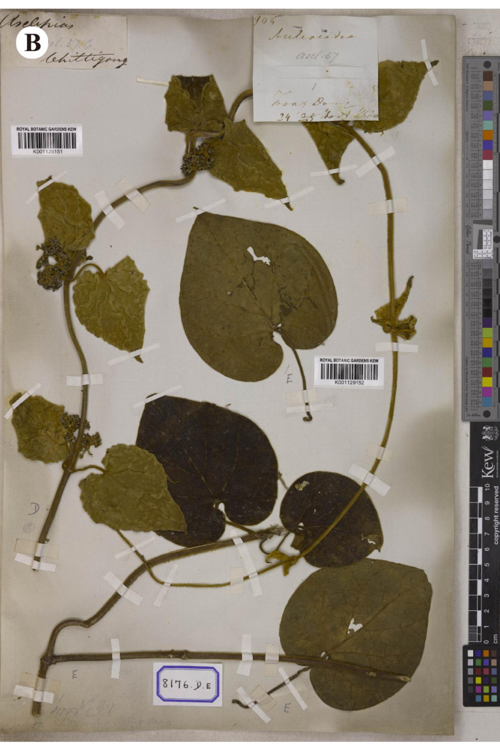


图 2 傣百解凭证标本(A)与通光散模式标本(B) 的比较

Fig. 2 Comparisons of a voucher specimen of Dai-Bai-Jie (A) and the type specimen of *Marsdenia tenacissima* (B)

2.2.2 通光散与灵药牛奶菜的形态比较

“傣百解”基原植物与灵药牛奶菜在系统发育分析中是姐妹类群，但通过比较两者的形态性状发现，它们两者的花冠颜色、叶型、叶面、茎干等相关性状存在差异（图 3， 图 4）。详细的特征区要点见表 3。

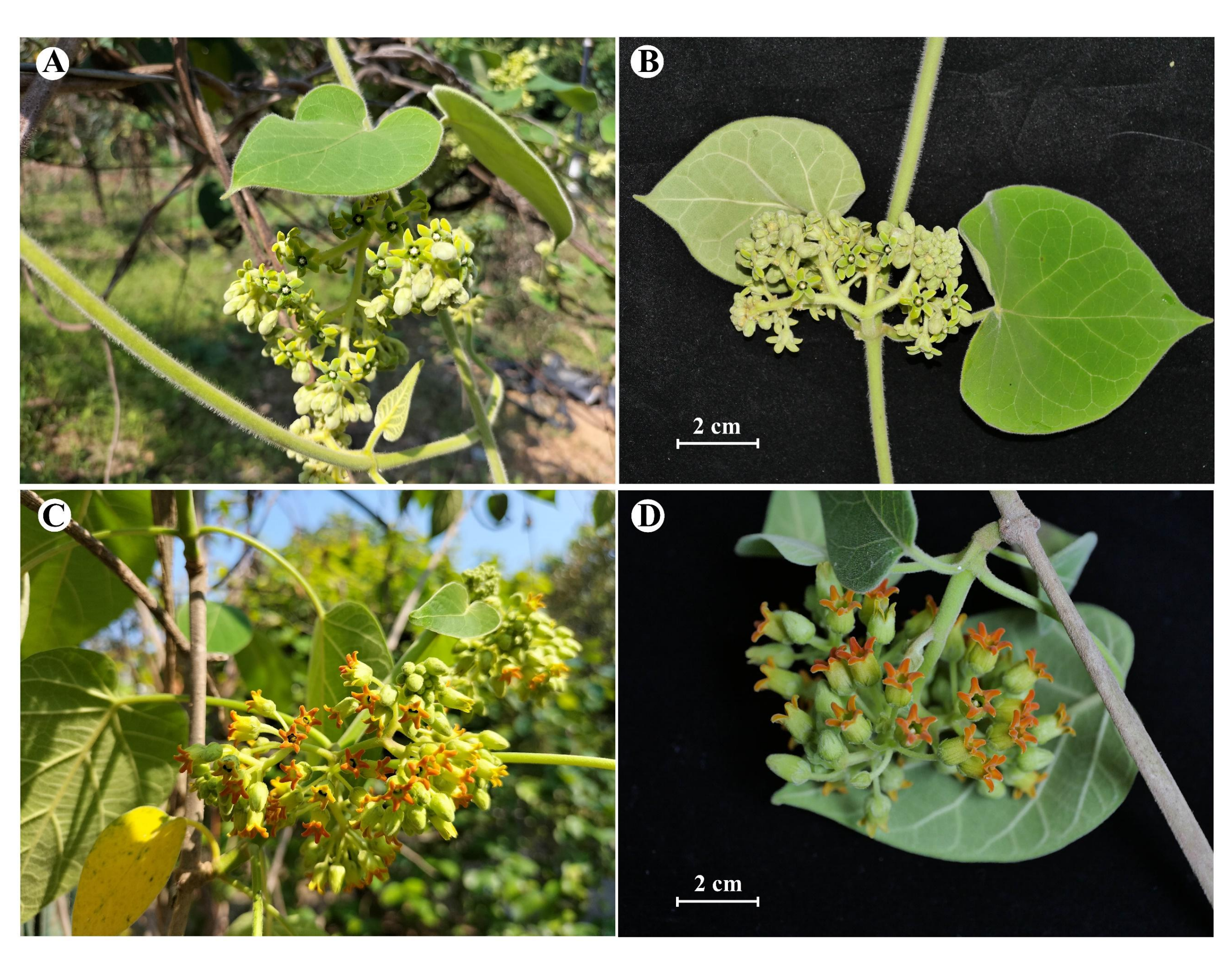
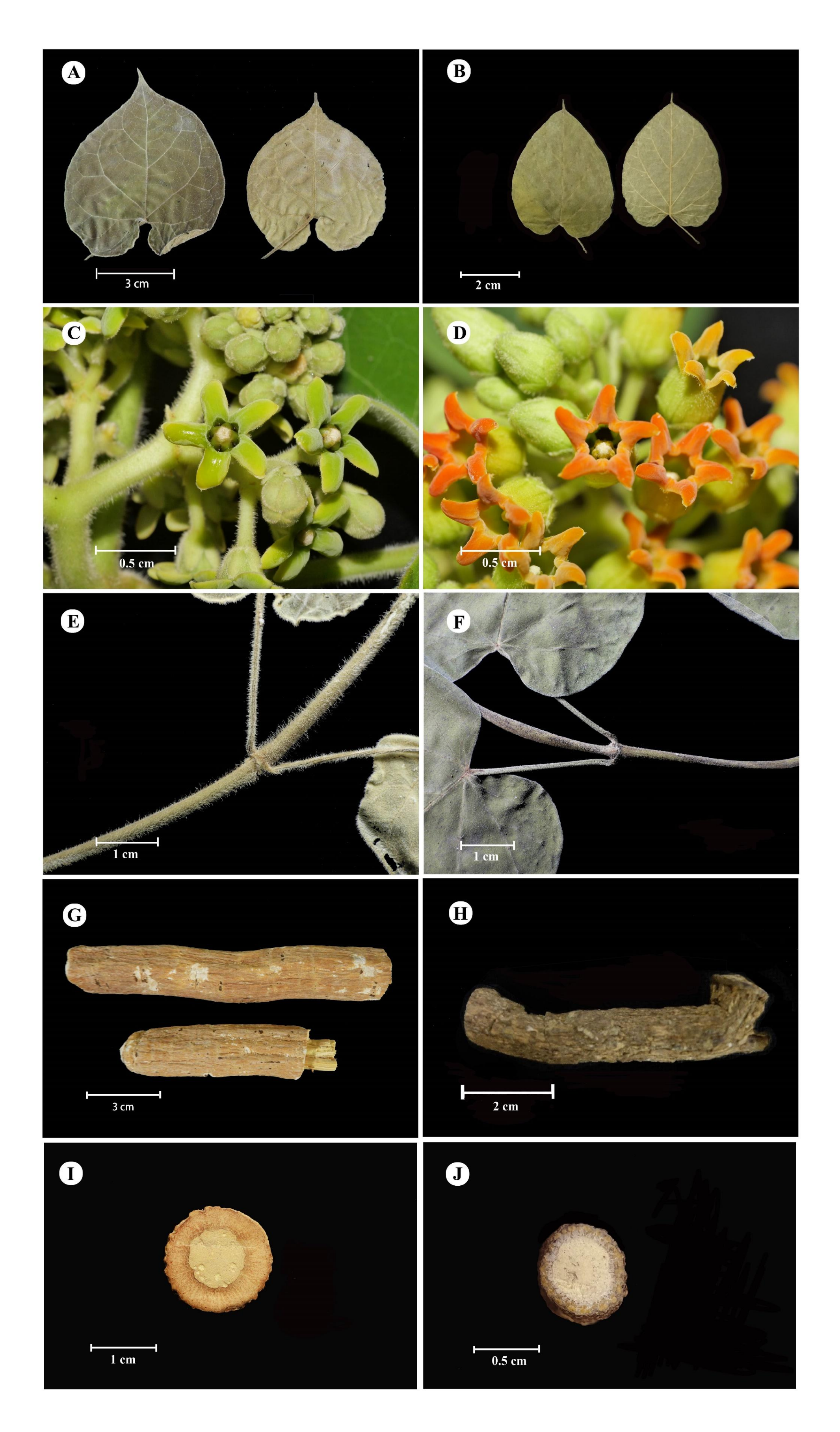


图 3 通光散(A, B) 与灵药牛奶菜(C, D) 植物图

Fig. 3 Photosof *Marsdenia tenacissima* (A, B) and *M. cavaleriei* (C, D)


A
3 cm
B
2 cm
C
0.5 cm
D
0.5 cm
E
1 cm
F
1 cm
G
3 cm
H
2 cm
I
1 cm
J
0.5 cm

A, C, E, G, I 为通光散各部分的形态结构；B, D, F, H, J 为灵药牛奶菜各部分的形态结构。
Morphological sturcture of each part from *M. tenacissima* (A, C, E, G, I);Morphological structure of each part from *M. cavaleriei* (B, D, F, H, J).

图 4 通光散与灵药牛奶菜在叶子、花、茎、根及其横切面的形态比较。
Fig. 4 Morphological comparisions of *Marsdenia tenacissima* and *M. cavaleriei* about leaf, flower, stem, root and its cross section.

表 3 通光散与灵药牛奶菜形态特征的比较
Table 3 Comparison of morphological characters between *Marsdenia tenacissima* and *M. cavaleriei*

特征 Features	通光散 *M. tenacissima*	灵药牛奶菜 *M. cavaleriei*
叶型 Leaf blade	叶宽卵形，先端急尖，叶基深心形，近圆形弯缺 Leaf broadly ovate, apex acute, leaf base deeply cordate with rounded sinus	叶心形，顶端短渐尖 Leaf ovate-cordate, apex short acuminate
叶面 Blade surface	质地柔软，表面密被茸毛 Soft texture, densely pilose to tomentose	表面被稀疏细绒毛 Papery, subglabrous
花冠颜色 Corolla color	浅绿色 Light-green	橙红色 Orange-red
花冠形状 Corolla shape	5 瓣深裂，裂片开展 Five deep lobes, lobes developed	5 瓣浅裂，近钟状 Five lobes, corolla campanulate to urceolate
柱头 Stigma	被花药附属物覆盖，宽圆筒状，稍长于花冠裂片 Stigma head broadly cylindric, concealed by anther appendages, slightly longer than the lobes	圆锥形，被花药附属物覆盖，比花冠短 Stigma head conical, concealed by anther appendages, shorter than anther appendages
茎干 Stem	圆柱形，粗壮，坚韧，被淡黄色柔毛，折断后有白色乳浆 Cylindrical, robust, tough, pale yellow pubescent, broken with white whey	扁圆柱形，被毛沿着狭窄的两侧生长 Flat cylindrical, hairy growth along narrow sides
被毛 Indumentum	整株被毛，较多 Densely pilose to tomentose	被毛较少 Sparse hairy
根 Root	根粗壮，表面灰黄色，皮薄且易剥落 Roots robust, surface grayish yellow, cortex thin and peelable	表面褐色，粗糙，表皮均有一层细胞构成，不易剥落 Surface brown, coarse texture, cortex firm, not easy to split
根部横切面	皮层较厚，切面薄壁组织白色，粉性	韧皮部较薄，薄壁组织灰

		色，不为粉性
Root cross section	Phloem thick, parenchymal tissue white and starchy	Phloem thin, the parenchymal tissue gray, not starchy

3 讨论与结论

“傣百解”被收录于 2005 年版的《云南省中药材标准》时，其基原植物记载是南山藤属植物苦绳。基于叶绿体基因 *psbD-trnT* 和核糖体基因 ITS 序列单独分析和 3 个片段的联合分析表明，“傣百解”基原植物样品和通光散样品形成一个单系分支，并且与南山藤和和 *M. abyssinica* 一起属于分支 III。因此，系统发育分析支持“傣百解”的基原植物是通光散，且与灵药牛奶菜成姐妹关系。在 *trnL-trnF* 序列的系统发育树中“傣百解”基原植物和通光散样品没有聚成一支，而灵药牛奶菜所有样品形成一个单系，这可能是由于该基因片段的变异位点较少所造成，因为其他物种的关系也未能得到较好的解析。在系统发育上，苦绳是与美洲的牛奶菜属物种和匙羹藤属物种聚在一起属于分支 I，与“傣百解”基原植物关系较远。进一步结合《云南省中药材标准》后面附录的植物照片和药材照片，再次确认“傣百解”的基原就是通光散，这与早期的研究和考证结果一致（李海涛等, 2014）。

值得关注的是，从 2012 年开始于“傣百解”基原植物相关的考证研究主要基于形态分析和显微鉴定（管艳红等, 2012）。由于传统的鉴定方法会存在局限性，不仅容易受物种本身所处的环境和生长期的影响，还需要依赖鉴定者的经验，进而影响鉴定结果的准确性。已有的研究使用叶绿体基因组序列 *psbD-trnT*，*trnL-trnF*，核糖体 ITS 和 ETS 较好地解析了牛奶菜族的系统发育关系 (Espírito Santo et al., 2019)，以及利用叶绿体基因 *rbcL* 和核糖体 ITS2 序列能很好地区分一些牛奶菜属物种与其近缘类群（张忠廉等, 2013）。特别是核糖体 ITS2 序列，在 DNA 条形码 (DNA barcoding) 中已被推荐用于物种鉴定的通用条形码，并且已用于药材市场中通光散及其掺假品鉴别 (Yu et al., 2018)。当前，植物 DNA 序列和系统发育的分析方法应用于药材的分子鉴定也已经成为了植物分类和物种鉴定研究的热点（陈士林等, 2007）。不过，对于亲缘关系接近的物种或姐妹物种，单个基因片段因变异度低使得物种鉴定率低（倪梁红等, 2014），所以采用变异位点数较多的基因片段或多片段组合可有效地提高物种鉴定率（张越等, 2021）。本研究中的叶绿体片段 *trnL-trnF* 由于序列变异位点较少，只占所分析序列长度的 14.11 %，所以系统发育分析显示许多物种之间的关系未能得到解决。相比而言，核糖体 ITS 具有较多的变异位点，在系统发育树中能将大多数物种区分开。因此，本研究推荐使用核糖体 ITS，或者使用核糖体 ITS 与叶绿体片段片段进行联合分析，用于“傣百解”基原植物的分子快速鉴定（倪梁红等, 2014）。

形态特征比较结果显示，“傣百解”基原植物的凭证标本与通光散的模式标本在叶子形态，花的结构以及植株的被毛等特征基本一致。形态上，“傣百解”基原植物和通光散的茎都密被淡黄色柔毛，叶两面被绒毛，叶顶端急尖，基部深心形，近似圆形弯缺；茎被毛多，为圆柱形，折断后有白色乳汁；花序多歧分支，伞形聚伞花序，花冠近钟状，裂片肉质膨胀，展开；柱头凸起，为宽圆筒状，被花药附属物覆盖 (Li et al., 1995; William et al., 1819)。我们的研究结果和李海涛等人（2014）对“傣百解”基原植物考证结果一致，进一步确定“傣百解”的原植物是通光散。通过比较通光散与近缘种灵药牛奶菜的形态可以看出，两者具有明显的形态差异：（1）灵药牛奶菜的叶子基部没有形成圆形弯曲，且叶被毛稀疏，表面较为光滑；（2）茎为扁圆柱形，被毛沿着狭窄的两侧生长，花冠颜色与通光散不同，为橙红色；（3）花冠裂片更浅，张开的幅度更小，直立后稍外展；（4）根表面粗糙，不为粉质，不易剥落。因此，通光散和灵药牛奶菜可依据根、茎、叶、花的形态性状差异进行物种鉴别（图 4)。西双版纳傣药傣百解一直以来备受人们关注，其基原考证首次从分子系统学角度获得进一步的澄清，将植物的形态特征与其 DNA 序列相结合可以很好地对物种及其近缘种进行鉴别，且鉴别效果比单一的传统鉴定法更佳（姚纲等, 2021; 金海湘等, 2019; 苏畅等, 2019）。

傣药，不仅是我国四大民族药之一，也是我国医药文化不可或缺的组成部分。民族医药形成于少数民族区域，长久以来，当地的民众都使用民族药来治疗疾病和保健身体。因具有良好的效果得以世代

相传（张梦娜, 2018）。为了使民族药物资源和民族生物文化多样性得到保护和持续利用，我们需要对一些常用的傣药进行系统的整理和物种基原考证，从而能对傣药的基原植物作准确的鉴定，这是确保临床上准确、安全用药的前提（龙春林, 2013）。传统的生药鉴定法有一定的局限性，主要依赖于经验，主观性较强，对于形态学上难以区分的样品，不同的人依据不用的性状得到的分类结果也不尽相同，因此，结合分子系统学的证据会更有助于物种的鉴定。同时，系统发育分析有助于物种之间亲缘关系的梳理，可能寻找到近缘替代种，同时也可为傣百解基原植物的种质资源综合评价、系统进化等研究提供了有效的科学依据，这对品种整理，鉴定以及保护和开发利用具有重要的意义（段宝忠, 2017）。

参考文献：

ALEXANDROS S, 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies[J]. Bioinformatics, 30: 1312-1313.

ALLEN GC, FLORES-VERGARA M, KRASYNANSKI S, et al., 2006. A modified protocol for rapid DNA isolation from plant tissues using cetyltrimethylammonium bromide [J]. Nat Protoc, 1(5): 2320-5.

CHEN SL, YAO H, SONG JY, et al., 2007. Identification of Chinese medicinal materials based on DNAbarcoding(barcode) technology [J]. World Sci and tech/ Mod Trad Chin Med Mater Med, 9(3): 7-12. [陈士林，姚辉，宋经元，等, 2007. 基于 DNA barcoding（条形码） 技术的中药材鉴定 [J]. 世界科学技术—中医药现代化，9(3): 7-12.]

DARRIBA D, TABOADA GL, DOALLO R, et al., 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing [J]. Nat Methods, 9: 772.

DOYLE JJ, DOYLE JL, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. Phytochemical, 19(1): 11-5.

DUAN BZ, XU J, LI HT, et al., 2015. Research status, development and utilization of traditional Dai medicine in Chin, [J]. Chin J Chin Mater Med, 40(1): 18-23. [段宝忠，徐江，李海涛，等，2015. 傣药资源的研究现状与开发利用[J]. 中国中药杂志，40(1): 18-23.]

DUAN BZ, 2017. Variety arrangement and molecular identification of Dai medicine resources [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine: 1-267. [段宝忠，2017. 傣药资源品种整理与分子鉴定[D]. 武汉：湖北中医药大学：1-267.]

EDITORIAL Committee of Chinese Flora, Chinese Academy of Sciences, 1977. Flora Reipublicae Popularis Sinicae [M]. Beijing: Science Press, 63: 463-465. [中国科学院中国植物志编辑委员会，1977. 中国植物志[M]. 北京：科学出版社，第 63 卷：463-465.]

ESPIRITO-SANTO FDSD, RAPINI A, RIBEIRO PL, et al., 2019. Phylogeny of the tribe Marsdenieae (Apocynaceae), reinstatement of Ruehssia and the taxonomic treatment of the genus in Brazil [J]. Kew Bull, 74 : 1-30.

GUAN YH, LI HT, ZHANG LX, et al., 2012. Microscopic identification of Dai-Bai-Jie and *Degrea sinensis*[J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 23(2): 418-419. [管燕红，李海涛，张丽霞，等，2012. 傣百解与苦绳的显微鉴定[J].时珍国医国药，23(2)：418-419.]

GUAN ZB, ZHANG LX, SONG MF, et al., 2012. Genetic relationship on several medicinal plants in *Marsdenia* from Yunnan in ISSR marker [J]. Chin J Chin Mater Med, 31(11): 1550-1552. [管志斌, 张丽霞, 宋美芳, 等, 2012. ISSR 标记研究云南产牛奶菜属几种药用植物的亲缘关系[J]. 中国中药杂志，37(11)：1550-1552.]

HUELSENBECK PJ, RONQUIST F, 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees[J]. Bioinformatics, 17: 754-755.

JIN JJ, YU WB, YANG JB, et al., 2020. GetOrganelle: a fast and versatile toolkit for accurate de novo

assembly of organelle genomes [J]. Genome Biol, 21(1): 1-31.

JIN HX, DAI JH, HUNAG GL, 2019. Germplasm Resources of *Tabebuia* and *Handroanthus* in South China: Morphology and Molecular Identification [J]. Chin Agric Sci Bull, 35(7): 36-41. [金海湘，戴金宏，黄桂莲，2019.华南风铃木类植物种质资源的形态与分子鉴定[J]. 中国农学通报，35(7)：36-41.]

KATOH K, STANDLEY DM, 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability [J]. Mol Biol Evol, 30(4): 772-80.

KEARSE M, MOIR R, WILSON A, et al., 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data [J]. Bioinformatics, 28(12): 1647-9.

KUMAR S, STECHER G, LI M, et al., 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms[J]. Mol Biol Evol, 35:1547-1549.

LIAO MC, ZHANG YX, CHEN F, et al., 2016. Study on chemical constituents of *Marsdenia tenacissima* [J]. J South-Central Univ Nat (Nat Sci Ed), 35(3): 39-41. [廖矛川，张雨馨，陈 凤，等，2016. 傣百解化学成分研究[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 35(3)：39-41.]

LI P T, GILBERT MG, STEVENS WD, 1995. Asclepiadaceae [M] // WU ZY, RAVEN PH. Flora of China. Volume 16. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press: 189.

LI HT, KANG LP, GUO BL, et al., 2014. Original plant identification of Dai nationality herb “Daibaijie” [J]. Chin J Chin Mat Med, 39(8): 1525-1529. [李海涛，康利平，郭宝林，等，2014. 常用傣药“傣百解”的基原考证[J].中国中药杂志，39(8)：1525-1529.]

LIU YF, HU ZG, XU J, et al., 2019. Application of phylogenomics in Chinese medicine resources [J]. Chin J Chin Mater Med, 45(5): 891-898. [刘义飞，胡志刚，徐江，等，2019. 系统基因组学在中药研究中的应用[J]. 中国中药杂志，44(5)：891-898.]

LONG CL, 2013. Modern ethnobotany: An introduction [J]. Plant Divers Res, 35(4): 438-442. [龙春林，2013. 现代民族植物学引论[J]. 植物分类与资源学报，35(4): 438-442.]

NATIONAL Administration of Traditional Chinese Medicine, 2005. Chinese herbal — Dai medicine volume [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press: 273-274. [国家中医药管理，2005. 中华本草——傣药卷[M]. 上海：上海科学技术出版社：273-274.]

NEI M, KUMAR S, 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics[M]. New York: Oxford University Press.

NI LH, ZHAO ZL, MENG QW, et al., 2014. Identification of Tibetan medicinal plants of *Meconopsis* Vig. using ITS and *psbA-trnH* sequence [J]. Chin Trad Herb Drugs, 45(4): 541-5. [倪梁红，赵志礼，孟千万， 等，2014. ITS 和 *psbA-trnH* 序列鉴别绿绒蒿属藏药植物[J]. 中草药，45(4)：541-5.]

PRICE MN, DEHAL PS, ARKIN AP, 2009. FastTree: computing large minimum evolution trees with profiles instead of a distance matrix[J]. Mol Biol Evol, 26(7): 1641-1650.

SU C, LIN YX, WANG Q, et al., 2019. Morphological characteristics of leaves and DNA barcoding for identification of *Mentha haplocalyx* and its related species [J]. Chin Trad Herb Drugs, 50(15): 3667-3672. [苏畅，蔺应雪，王乾，等，2019. 薄荷及其近缘物种叶的形态特征及 DNA 条形码鉴定研究[J]. 中草药，50(15)：3667-72.]

The Angiosperm Phylogeny Group, 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV [J]. Bot J Linn Soc, 181: 1-20.

WILLIAM ROXBUJGH M D, 1819. Plants of the coast of coromandel. Vol. III [M]. London: W. Bulmer and co. 1819 : 35.

WANG PL, YANG J, ZHU ZF, et al., 2018. *Marsdenia tenacissima*: A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology [J]. Am J Chin Med, 46(7): 1-32.

YANG L, PENG LQ, TAI HC, et al., 2021. Research progress of Dai-Bai-Jie[J]. J Med Pharm Chin Minor, 27(3): 55-57. [杨莲，彭丽秋，台海川，等，2021.傣药傣百解的研究进展[J]. 中国民族医药杂志，27(3)：55-57]

YAO G， XUE SE, 2021. Taxonomic investigation of *Arenaria melandryoides* (Caryophyllaceae): insights from molecular and morphological data[J]. Subtrop Plant Sci, 29(2): 132-138. [姚纲，薛彬娥，2021. 基于分子与形态证据的桃色无心菜(石竹科)分类地位探讨[J]. 热带亚热带植物学报，29(2)：132-138.]

YU J, Wu X, Liu C, et al., 2021. Progress in the use of DNA barcodes in the identification and classification of medicinal plants [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 208: 1-7.

YU N, Wei Y L, Zhu Y, et al., 2018. Integrated approach for identifying and evaluating the quality of *Marsdenia tenacissima* in the medicine market [J]. PLoS ONE, 13(4):1-11.

YUNNAN Province Food and Drug Administration, 2005. Yunnan Standard for Chinese Medicinal Material [M]. Kunming : Yunnan Fine Arts Publishing Press, 1: 190-193. [云南省食品药品监督管理局，2005.云南省中药材标准[M]. 昆明：云南美术出版社，第一册：190-193.]

ZHANG ZL, SONG MF, LI HT, et al., 2013. ITS2 and rbcL sequence analysis on plants of *Marsdenia* R. Br. and its related species [J]. Chin Trad Herb Drugs, 43(16): 2300-2303. [张忠廉，宋美芳，李海涛，等，2013.牛奶菜属植物及其近缘植物的 ITS2、*rbcL* 序列分析[J]. 中草药，43(16)：2300-2303.]

ZHANG Y, SONG, MF, LI HT, et al., 2021. DNA barcoding identification of original plants of a rare medicinal material Resina Draconis and related *Dracaena* species [J]. Chin Trad Herb Drugs, 46(9): 2173-2181. [张越，宋美芳，李海涛，等，2021.珍稀名贵药材龙血竭基原及同属植物的 DNA 条形码鉴定研究[J]. 中国中药杂志，46(9)：2173-2181.]

ZHANG MN, 2018. Research and development of Dai medicine resources in China [J]. Asia-Pacific Trad Med, 14(7): 19-22. [张梦娜，2018.我国傣药资源研究开发概况[J]. 亚太传统医药，14(7)：19-22.]